0010/10/10

#### METHOD AND APPARATUS FOR MANUFACTURING DNA PROBE ARRAY

Publication number: JP2003185663 (A)

Publication date: 2003-07-03

KANBARA HIDEKI; OKANO KAZUNOBU + Inventor(s):

Applicant(s): HITACHI LTD +

Classification: - International:

C12M1/00; C12M15/00; G01N21/11; G01N21/64; G01N33/53; G01N37/00; C12M16/00; C12M16/00; G01N21/11; G01N21/64; G01N33/53; G01N37/00; (IPC1-7): C12M1/00; C12M15/09; G01N21/11; G01N21/64; G01N33/53; G01N37/00

- Europeen:

Application number: JP20020296866 20021010 Priority number(e): JP20020296866 20021010

Abstract of JP 2003185663 (A) PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a probe rmuseLen I ou se SCN-ED: To provide a probe array for detecting vanous kinds of DNAs where various kinds of arbitrary DNA probes are fixed. SCULTION: A probe array 4 is used. In the probe array 4, a particle (probe particle) 1 where various probes 2 are fixed in signed in a fixed order. A plurality of capillaries or channels where each probe particle is filled that excessed in professional propixality of capillaries of charaties where such probe profice is filled are enriged in praisite, and each purifice is injected from each capillary or charalit to provide the probe and provide the probe and the the probe array where the version probe profices 1 are aligned in the fixed order continuously is preparant. The various probes are borded to the proparant of the various probes are borded to the continuous probes are borded to the proparant of the various probes are borded to the continuous probes are provided to the problem of the problem of the property various kinds of DNA problem are fixed or COPPRIGHT. (CDROS.).In O

BJP4175074 (B2)

Date supplied from the especenet database --- Worldwide

### (19)日本国特許庁(JP)

# (12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号 特期2003-185663 (P2003-185663A)

(43)公開日 平成15年7月3日(2003.7.3)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	,,,,	裁別記号	F I			テーマコート*(参考)		
GOIN				G 0 1	N 33/53		M	2G043
	,						D	2G057
	21/11				21/11			4B024
	21/64				21/64		F	4B029
	37/00	101			37/00		101	
	0.700		審查請求	未請求	請求項の数7	OL	(全 12 頁)	最終頁に統

(21)出職番号 (62)分割の表示 (22)出版日

特職2002-296866(P2002-296866) 特願平10-53099の分割 平成10年3月5日(1998.3.5)

(71) 出鎖人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目 6 番地 (72)発明者 神原 秀記

東京都国分寺市東恋ケ窪一丁目280番地 株式会社日立製作所中央研究所内

(72)発明者 岡野 和宜

東京都国分寺市東恋ケ荘一丁目280番地

株式会社日立製作所中央研究所内 (74)代理人 100075096

弁理士 作田 康夫

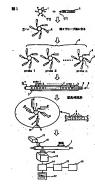
最終百に続く

# (54) 【発明の名称】 DNAプロープアレー製造方法、製造装置

## (57)【要約】

【課題】 任意のDNAプローブを多種類固定した多種 類のDNA検出用のプロープアレーを提供する。 【解決手段】 種々のプロープ2を固定した粒子(プロ ープ粒子) 1を一定の順序で整列させたブロープアレー 4を用いる。各プローブ粒子を充填した細管又は溝を複 数本並列に並べ、各細管又は薄から各々粒子の1個ずつ を、他の細管又は溝に注入して、種々のプローブ粒子1 を常に一定の順序で整列させたプローブアレー4を作成 する。粒径の異なる粒子に多種のプローブを結合して、 多種類の蛍光標識DNAを同時計測する。

【効果】 多種類のDNAプローブを固定したアレーが 簡単に調製できる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】複数の粒子の表面にプロープを結合させ、 前記プローブが固定された複数の前記粒子を前記プロー ブの種類ごとに区分けして複数の溝1に保持し、前記溝 1に保持された前記粒子を激2に1つづつ導き、前配溝 2に導かれた前記粒子を前記溝2の内部での配列順序を 保ちながら、プロープアレーホルダーへと送って配列さ せることを特徴とするプロープアレー製造方法。

1

【請求項2】前記溝1の設置順序により、前記プローブ アレーホルダー内部での前記粒子の前記配列順序が指定 10 され、前記プローブアレーホルダー内部での前記粒子に 固定された前記プロープは、前記配列順序により識別さ れることを特徴とする請求項1に記載のプロープアレー 製造方法。

【請求項3】前記粒子は、前記粒子の形状、前記粒子を 識別する蛍光体によって識別されることを特徴とする請 求項1に記載のプロープアレー製造方法。

【請求項4】前記溝2をn個設置し、各々に導かれた前 記粒子を、n個の2次元上に並んだ前記プロープアレー ホルダーに各々送って配列させることを特徴とする請求 20 項1に記載のプロープアレー製造方法。

【請求項5】前記プロープアレーホルダーとして、容 器、または毛細管を用い、前記複数の粒子を、前記容 器、前記毛細管、前記容器が有する平面部に形成された 費、または2つの前配平面部の間に形成された溝に収め ることを特徴とする請求項1に記載のプローブアレー製 造方法。

【請求項6】前記粒子の前記溝1から前記溝2への移動 は、電界印加、もしくは、溶液流によって行われること を特徴とする請求項1に記載のプロープアレー製造方

【請求項7】プローブが表面に固定された複数の粒子を 前記プローブの種類ごとに区分けして保持する複数の溝 1と、前記溝1に保持された前記粒子を1つづつ導入さ せて配列させて保持し、かつブロープアレーホルダーへ 連結する溝2と、前配粒子を前記溝1から前記溝2へ、 および前記溝2から前記プロープアレーホルダーへと移 動させるための移動手段とを有することを特徴とするプ ロープアレー製造装置。

### 【発明の詳細な説明】

## [0001]

【発明の属する技術分野】本発明は、検出対象をDN A. RNA、及びタンパク質として種々の検査項目を1 度に検査するプロープアレーに関し、特に、最近注目を 集めているプロープアレーの製造方法及び装置に関す る。

## [0002]

【従来の技術】ゲノム計画の進展とともにDNAレベル で生体を理解し、病気の診断や生命現象の理解をしよう とする動きが活発化してきた。生命現象の理解や遺伝子 50 に一定の順序で配列させて固定してプロープアレーを構

の働きを調べるには遺伝子の発現状況を調べることが有 **効である。この遺伝子の発現状況を調べる有力な方法と** して、固体表面上に数多くのDNAプローブを種類毎に 区分けして固定したDNAプロープアレー、又はDNA チップが用いられ始めている。このチップを作るには、 光化学反応と半導体工業で広く使用されるリソグラフィ ーを用いて区画された多数のセルに、設計された配列の オリゴマーを1塩基づつ合成して行く方法(Scien ce 251、767-773 (1991))、又はD NAプローブを各区画に1つ1つ植え込んでいく方法等 がある。

## [0003]

【発明が解決しようとする課題】従来技術では、DNA ブロープアレー、又はDN Aチップの作成の何れの方法 も制作に手間と時間がかかり、製作費が高価になる難点 がある。特に、プロープアレー (プロープの配列) が高 密度であり微細な部分からできていると製作は一層手間 と時間のかかるという難点がある。また、使用者が簡単 に作れない不便さもある。プロープアレーが粗に配列す る場合には、製作する上では楽になるが、全体として検 出反応に要する体積、従ってサンブル量が多くなり、計 測の面でも時間がかかったり、高感度が得られない等の 問題がある。

【0004】本発明は上記の難点を解決するためになさ れたもので、本発明の目的は、簡単に望むDNAブロー プアレー (DNAプローブの配列) を密集した状態で作 ることができ、製造コストも安価な方法を提供すること にある。

## [0005]

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するため に本発明では、各プローブを保持した固体を移動できる 様に微粒子で構成し、微粒子を主ばらに配列させた後に 移動させ、密集構造のプロープアレーを作製する。ま ず、種々のDNAプローブを合成して用意する。これら のDNAプロープをプロープの種類毎に微粒子の表面に 結合させる。固体表面へのDNAプローブの固定は、ビ オチンとアビジンの結合を利用する方法、Au(金)表 面にSH基を介して固定する方法(Biophysic al Journal 71, 1079-1086 (1 40 996)、ガラス表面に固定する方法 (Analyti

cal Biochemistry 247, 96-1 01 (1997))、ガラス表面に塗布したアクリルア ミドゲルのエレメントマトリックスに固定する方法(P roc Natl. Acad. Sci. USA 93, 4913-4918 (1996)) 等を利用して、簡単 に固体表面に多量のDNAプローブを固定できる。

【0006】DNAプローブを表面にそれぞれ保持した 種々の微粒子を、検査用のホルダーにDNAプローブの 種類毎に決められた順序で入れ、又は固体表面に種類毎 成する。微粒子は球状でありサイズは用途にもよるが、 直径数μmから1mmである。微粒子は、用途によって は、角形、円盤形等を使用しても良い。通常の検査には 直径0. 1−0. 2 mmの球形の微粒子が使いやすい。 【0007】溶媒と共にプロープを保持した微粒子(以 下、プロープ微粒子とも言う)は1つづつプロープアレ 一作成用の溝に供給される。検査用途に応じて、必要な 種類のプローブを簡単に溝の中に並べることができる。 各プロープを固定した微粒子の作製は安価にできるの で、プロープアレー自身も安価に作ることができる。溝 10 に並べられたプローブ付きの微粒子は検査用の毛細管、 又は細い隙間のセルに入れられ、使用される。毛細管を プロープアレーホルダーに使用したときには、検査しよ **ちとする試料DNAの量を少なくすることができる利点** がある。また、溶液導入系との結合も簡単にできる利点 がある。

【0008】以下に本発明の構成の特徴の詳細を説明す る。本発明の多項目検査を行なうプロープアレーの特徴 は、(1)異なる検査対象(DNA又は蛋白等)とそれ ぞれ結合可能なプローブを固定した粒子を複数並べたこ 20 と、(1) に於いて、(2) 各ブローブを保持した粒子 が予め決められた順序でライン状に並べられ、この順序 又は並べられた位置と粒子に固定されたブローブの種類 が対応づけられていること、(3)各プローブを保持し た粒子は、粒子の持つ特徴とブローブの種類が対応づけ られていることに特徴があり、(1)又は(3)に於い て、(4)各プロープを保持した粒子のサイズ又は形状 と、粒子の表面に固定されたプローブの種類が対応対応 づけられていること、(5)各プローブを保持した粒子 は、保持したプローブの種類に応じて異なる色素又は蛍 30 光体で標識されていること、(3)から(5)の何れか に於いて、(6)プロープを2次元平面上に1層に並べ たこと、(7) プロープを1次元に並べたこと、(8) プローブを透明な窓を持つ容器内に保持したこと、

(1) から(5) の何れかと於いて、(9) ブローブを保持した粒子を、毛細管内に保持したこと、(10) ブローブを保持した粒子を、固体平面に形成された溝又は2枚の平面の間に形成された溝と保持されること、(1) ブローブを保持した数を数の毛細管を複数回並べるか、又はブローブを保持した数を全を形に配列したこと、(12) (1) から(7) の何れかに於いて、ブローブを保持した数子をと次元に配列したこと、(12) (1) から(7) の何れかに於いて、ブローブを保持した粒子を、アガロース等のゲル状物質の中に保持したこと、等に特徴がある。

【0009】本発明の多項目検査を行なうプロープアレーの製造方法の特徴は、(13)粒子の表面にプロープを固定する工程と、プローブが固定された複数の粒子を配列する工程とを有すること、(14)粒子の表面にプロープを固定する工程と、プローブが固定された複数の50

粒子を混合して平面上に配列する工程とを有し、粒子に 固定されたプローブの種類を粒子の形状、サイズ、又は 粒子を標識する蛍光体により識別すること、 (15) (12) に於いて、粒子に固定されたプロープの種類に より、予め定められた順序で粒子を直線上に並べるこ と、(16) (14) に於いて、プローブを固定した粒 子を、プローブの種類毎に異なる粒子溜に保持し、毛細 管又は溝を通じて粒子を配列するための溝に1つづつ供 給して配列させ、該配列を保持してプローブアレーホル ダーに移送してプローブアレーを作成すること、(1 6) において、粒子溜から粒子を配列するための構、又 はプロープアレーホルダーへの移送を電気的な力により 行なうこと、 (18) 粒子溜から粒子を配列するための 溝、又はプロープアレーホルダーへの移送を溶液の流れ を用いて行なうこと、(19) (14) から(17)の 何れかに於いて、プローブを固定した粒子を移送するた めの毛細管又は溝を複数個用いて、異なるプローブがそ れぞれ固定された複数の粒子を同時に粒子を配列するた めの博又はブループアレーホルダーに移送すること、に 特徴がある。

【0010】粒子の表面に保持されたプローブに結合す る検査対象を検出する本発明の方法の特徴は、(20) 検査対象を蛍光体又は燐光物質で標識する工程と、粒子 に光 (レーザー) を照射して発する蛍光又は燐光を光学 的に給出する工程とを有すること、(20)に於いて、 (21) 粒子が配列した直線に沿って、光 (レーザー) を発する光源とアレーセンサーをスキャンして、粒子が 配列する位置毎に蛍光又は燐光を検出すること、(2) 粒子が配列した直線に沿って、光(レーザー)を照 射して、粒子が配列する位置毎に蛍光又は燐光を検出 し、各プローブに結合した検査対象の量を求めること、 (23) 光の照射により得られる各粒子による光の散乱 画像と、粒子に固定されたプローブに結合した検査対象 から発する蛍光とを検出し、粒子の形状又は粒子を標識 する蛍光体から発する蛍光と、検査対象から発する蛍光 又は燐光の強度の関係を検出し、各プローブに結合した 検査対象の量を求めること、(24)粒子をフローさせ ながら検出すること、(25)粒子に固定されたプロー プに結合した検査対象を蛍光画像として計測すること、 (26) 粒子を粒子画像として計測すること、等に特徴

[0011]未発明のプロープアレーの製造方法は、 (27) 粒子の表面にプロープを固定する第1の工程 と、プロープが固定された複数の粒子を部に分けて固体 表面の各区順に配列する第2の工程と、各位医側に戻い 杠料に固定されたプロープと検査対象とを反応させる 第3の工程と有し、第3の工程が行なわれる各区画での 粒子の分布状態と、第1の工程での粒子の分布状能が異 なることに特徴がある。

がある。

50 【0012】本発明の代表例を要約すると以下の通りで

al Biochemistry247, 96-101 1079-1086 (1996) Analytic (Biophysical Journal 71,

魔文式ノ属土、紅え附、紅出れるから合辞をヤーロ マムレープを結合させる事もできる。固体表面にDNAア ANG幾重四面奏 (千球線) 岩固>なか合計へでソヤー 、それが、合様のこ、>見よアい用を嫌ANG加合アJ たた微粒子3の群ができる。もちろんDNAプロープと プを強複毎に微粒子に捕獲し、複数のプロープが捕捉さ ーロでANGアJコミよのこ。&社占合語会と(干録下 ーロて) 千盆樹木し料料をくぐソて、3.2て一口てAN ロゴバさ合諸な17ンモトン、J 5勝本1をて一口てA テン付きのフライマーを用いてPCR増幅して得たDN ★当。各番子がるお恵幣の経直の1千球構。各十意用を (mm2 .0 至直) I 千球カペモスマヤの沢敷式J 表界 J面表金07ンジンで。ひるむ図で示る置装査締るVI用 Aフロープアレーの製作手順、DNAプロープアレーを NGの附離実の1葉の再禁本 、約1図 (附離実の1葉) して詳細に説明する。

[7100]

あね夢、5 こるで育全5 照手機移のあれる甘さ機移5 ~~そハホーンてて一口で頭前さな2都頭前ひよな、~ 2 報道間 3.4 L 報道前 3.4 計記報 2.4 計画報 2.4 計画報 2.4 計画報 2.4 計画報 3.4 計画報 ーやハホーソアと一口ている、J 特界フサム阪頭フサさ 人群へたて1多千球団前かれち特界311数団前 ,31数 の遊遊る卡特界プリれ公園にとに区分して保持する遊遊の 千球の境界がれる玄固コ面秀なて一口で(2) 、5こる ちながら、プロープアレーホルダーへと送って配列させ 20 界を判削限所のケ帝内の2 新33前多千姓33前式水水準31 2 構活前, 含準CでC L 31 2 構多干球瑞前九代 5 表果 31 て一口下活浦を干砕場前の炭漿ホれさ玄固なて一口下語 あみの一つてて一口下ぐな計る査飾目距後の門祭本。る で許多競響の振動の下以3/4割の開発本【8 I 0 0】 。各下沖漿

多ー√ Tてーロての用出終ANGの碳酸を大J虫固碳酸 01 冬冬て一口てANOの意丑、き丁媛臨习単簡な一つてて ーロてオノ宝国タヤーロてANGの康蘇を、ガブ門発本 。& 本機指制同多ANU離熟光准の避難を , アJ合諸多 てーロでの動をコモ站るな異の野球。るで加引を一つて て一口て力士と氏嫌り利則の宝ーコ常る干鉢て一口ての ☆暦、プン人当当常が又智味の曲、多い予問 1の子ば☆ 各名な熱却又智略各、シ並コ厄並本遊跡を撕却又智略さ → はまる子がて一口でき。るい用を一つでた一口でかせる さ所選引ーそハホア和剛の宝ー会(モボヤーロヤ)モ カン宝国をヤーロでの4壁、お**ア**門表外の明終本。&&&

(ct)tの11-4ペトC、ctさもと無難のそハトC凸巻 08 表 (午ば端) 朴固 、大ま 。さも社験活习 ( (1991) るきて児童を謝措是茲の慶蘇 、お21ーセハトて合器の こ、>臭きブノミ海聯/4なJ合諸多艦騎光並31(刊間) ANG将城、考はアJ合諸全蕭蔚光並るな異れ予れ子 MA (衛片) に結合したが、プローブ1, 2, ···, πの 【体端を織悪光雀 , 対で関端の諸土 , はな【7 100】

。6 きケ宝呼ばな 予なる下去存体医漏基型の尚目査飾习(背限) ANO将 烯, dett出のす 8 I 置業示表均又, 7 I ー 4 ニチ。る **卞暎晴を差示や計の~7Ⅰ~キニキV及 , 8 Ⅰ置装距域** 40 御、CCDカメラ13からの信号取り込み制御、マーラ はお、コントローラー14は、上記の移動的の移動制 でプロープの種類に対応し、縦軸は各プロープと相補網 ○新、置かの1千球焼まれる>並3中の(7ーを水木一 マヤてーロて) 背ーリミンチキ 、幻神跡の状図代出るパ さ示表コ71ーキニチ。ひれさ代出コ81置葉示秀心果 **蒜パさ煎な(等出途の曳遊び返置かのセーン 、小幣平の** 暴曲小変の曳峻光道) 野以号前の玄雨パされるれる1813 薬慙必ゃーマ , SJ共くるれる示法でムトやハて (I SJ 7 I 一ゃニチガを削光定式水ら出跡。ひ水ら出跡らべ向大る で交直割割と向式接腕の一サーマ 、0 よ 3 器出始光の尊 アイルサー12により遊長選択され、CCDカメラ13 お光雀る下終る心ANG体縄式れち合諸な8難熱光道式 水占<br />
は<br />
が<br />
は<br />
を<br />
が<br />
な<br />
す<br />
な<br />
が<br />
な<br />
す<br />
な<br />
が<br />
は<br />
と<br />
が<br />
に<br />
は<br />
に<br />
は<br />
に<br />
は<br />
に<br />
は<br />
に<br />
に< √ ふるもフロ出体域、お "る。6\* 性、触科出口である。 レ リヤヤーロトる卡連移丁J光集丁S I X ソンターサーリ のる心は11原光一サーマ ,フノイセサコ (予步示図) 台 **微谷の置装査剤を7ーやハホーリてて一口て、多大甘さ** ストギリてトへ多 3 A N G 体域 かれち合詩社 8 糖熟光量 **よなて一口てANGプノ人が多ANG体域が水さ台談**な 8期幕光重さゆる向式人影体域の3口人的体域の(7-それホーソアケーロで) 普一リランナキロ社会ターノア [0016] 7 = 71, 2, ..., a \$5 \$5 \$7 = 7 。るきが改る

こる映る朦朧のANOの中枠査飾る。体光雀る下祭丁J株 第5兆、券(るあず市南ANG株満式水も駄配311千球 鮮(1.3)合計機解財却(9) オJストをリてトへまらAN **G体地式水さ合該な8離熟氷崖ら2℃ーロでANG、ブ** のるきがなくこる吹きべい村川面表をて一口ての摩擦る に並べる順番から、並べられた何番目の微粒子がいかな 中の (アーヤハホーリアとーロで) 替ーリランナキ。& キュチーリアと一口アフト並以中の(アーキルホーリア てーロて) 普一リマンナキな問題のひって 1 全干放機式れ ち級計法下一口下式ノ漁引アノコぐよのご【8 100】 い見きアノ人葬习面

表(午途券) 本間サち合諸と底頭の宝券の第1多一マヒ UTANG , CLSI気合機解財 , サちストをリてトへき ーマヒリ大ANGふc許多騰Aリ次、きはアノ宝闘多等 TT……TTTTTTLよ時 、展頭の宝券3両7全3面 に、分光結晶、回折格子等を使用して蛍光の分光を行な う構成とする。

【0018】 次に、第1の実施例に於ける、微粒子をブローブ固定媒体とするプローブアレーの作製方法について説明する。

【0019】図2は、(a) 微粒子をブローブ固定媒体 とするプローブアレー作製治具の部品である細溝を持つ プレートの平面図、(b) プロープアレー作製治具の断 面図である。プローブ付き微粒子1は細溝を用いた微粒 子配列用の治具により並べることができる。図2(a) の平面図に示す、微粒子配列用細溝治具の細溝を持つプ レート18に、図2(b)の断面図に示す透明カバー2 3をつけて使用する。ブレート18には、異なる種類の プロープを保持する微粒子をそれぞれ異なる滯に並べる 複数の溝19と、溝19に交叉 (直交) し、ブローブを 保持した種々の微粒子を配列するための溝(プロープア レー作製用細溝) 20と、送液を排泄する送液出口用の 溝21とが形成されている。溝19、20の溝幅方向及 び溝深さの最大値は2つの微粒子が同じに入れない寸法 (即ち、微粒子の直径をRとする時最大値を2R未満と 20 する条件1を満たす)とし、溝21の溝幅方向及び溝深 さの最大値は微粒子が通過できない寸法(即ち、微粒子 の直径をRとする時最大値をR未満とする条件2を満た す)とする。即ち、ブレート18に形成される細溝1

ず)とする。即ち、フレート18に冷成される無痒1 9、20と透明カバー23により形成される無管の内部 を微粒子1は通過できる。なお、滞19、20、21の 断面形状、寸法は、上配条件1、2を満たすものであれ ば、溝の断面形状は任意である。

【0020】細溝19の1つの溝には同一種類のブロー プを保持する徴粒子が、ランダムな間隔で並んでいる。 細遭19の各細環毎に異なるブローブを保持する微粒子 が区分けして保持される。例えば、細溝19の第1の溝 19-1にはプローブ1を保持する微粒子が、第2の溝 19-2にはブローブ2を保持する微粒子が、…、第n の溝19-nにはブローブnを保持する微粒子が、それ ぞれ並べられる。複数の溝19に直交して設けられた溝 20にはプローブを保持した種々の微粒子が配列され る。プロープ付き微粒子1は溶液の流れ、又は電界によ り配列用の溝20に導かれる。溝19には横方向には2 つの微粒子はサイズの関係で入れないので、各種プロー 40 プを保持した微粒子 (プローブ粒子) が1つづつ複数の 細溝19のアレーとプローブ配列用溝20との交点に並 ぶ。この交点から先の溝21は細くなり粒子は先へ進め ないようになっている。粒子の間隔はこの時点でまばら (ランダム) である。 激20に並んだ微粒子は、溝19 と直行する方向、即ち配列用の溝20に沿って溶液流、 又は電界によりプロープアレー保持キャピラリー(プロ ープアレーホルダー7) (内径0.3mm) に送り込ま れ隙間無く配列する。22は、微粒子配列用の治具(2

ローブアレーホルダーコネクターであり、5 はストッパーチューブである。線構19の各様に通じる粒子瘤 (関9の38参照)には、用いようとするDNAブローブを固定した粒子を供給しておく。このブローブを固定した粒子を保持する粒子瘤の配列順序が、標20、ブローブアレー保持キャビラリーに於けるブローブの配列順序となる。ブローブを固定する粒子の間にマーカーとなる粒子を入れて順序をわかりやすくすることもできる。
【0021】次に、第10実施例に於ける、キャビラリ・特性とブローズを操
オフィンを操
オフィンを操
オフィンローブアレーホルダー7

10 し217 代に、第1の英語がになり、イイニック 10 一管中にプローブを保持するプローブアレーホルダー7 の例について説明する。

【0022】図3は、第10実施例に於けるプロープア レーホルダーの例を示す図である。プローグ付き微粒子 は終料注入口、及び排出口のついたプロープアレーホル ダー7 (キャピラリー)に保持されている。プロープア レーホルダー7の両端には、微粒子1が流出しないよう ーコネクター22を介してキャピラリーホルダー用末端 アダプター24が取り付けられている。もちろんアダブ ター24は微粒子をキャピラリー(プロープアレーホル ダー7)に導入してから取り付ける。

[0023] 検査しようとするDNA軟料を蛍光標識 (ここでは、Cy-5 (発光帳大波長650nm)を用 いた)し、溶媒と共にプロープアレーを保持するキャン ラリー (プロープアレーホルダー7)中に導入し、ハイ ブリダイゼーションをDNA軟料とプロープとの間で起 こす。ハイブリダイゼーションにより目的DNAをだっ 一プに結合した後、余剰のDNAサンブルを洗砕涂去し て蛍光検出をするが、ライン状のプロープアレーでは、

10 プローブアレーを保持するプローブアレーホルダー7の 機械的な生産が容易であり、試料の消耗が少ない利点が ある。なお、標業業光体としてはテキサスレッド (発光 極大波長: 615 nm)、ブルオトセインイソテオシア ネート (発光波長: 520 nm) 等があり、これら標識 低光体に加えて増光を発する標準体を用いて良い、未 反応のDNAを売浄除法し、計測装置に挿入する。計劃 装置は励起用レーザー、及び蛍光検性器からなってい る。キャビラリー管 (プローブアレーホルダー) に沿っ てレーザーをスキャンしたり、キャビラリー管の内側を 射し合いる電光画像を検出したりする。また、キャ 射し得られる電光画像を検出したりする。また、キャ ラリー管を動かし機和子を順次原料部へ送り込んでも良

【0024】次に、DNAブローブアレーを用いる検査 装置の例について説明する。

と直行する方向、即ち配列用の様20に沿って溶液流、 又は電界によりブローブアレー保持キャビラリー(プロ ーブアレーホルダー7)(内径0.3mm)に送り込ま 九線関無く配列する。22は、微粒子配列用の治具(2 3、20)とブローブアレーホルダー7とを結合するブ 50 対的に固定し、レーザー照射位置と検出器13と相 してプローブを保持したプロープアレーホルダー7を相 対的に移動させて照射するか、又はプロープアレーホル ダー7を固定してレーザー照射位置と検出器13を相対 的に移動させて照射する方式とする。検出器13には光 電子増倍管やレンズ付き冷却CCDカメラが用いられ、 蛍光はレーザの照射方向とほぼ直交する方向から検出さ

【0026】図5は、レーザー光をライン状に配列した 微粒子に沿って照射するDNAプロープアレーを用いる 検査装置の例を示す模式図である。図5では、レーザー 光源11からのレーザーをプロープアレーホルダー7の 軸に沿って同軸方向に照射する例である。標識蛍光体か ら発する蛍光を、レーザーの照射方向と交叉する方向か らマイクロレンズアレー (セルホックレンズ) 25で集 光し、フイルター26を介してラインセンサー27に結 像させる。図5に示すその他の構成要素は、図1に示す 構成と同様である。図5に示す構成は、効率の良い方法 であるが微粒子が透明な場合に限られる。

【0027】図6は、プロープアレーの存在する領域 (プロープの並ぶ照射領域) 30の全体を全面照射する DNAプロープアレーを用いる検査装置の例を示す模式 図である。図6に示す構成では、ブローブアレーは1次 元に配列しているが2次元に配列した場合にも適用でき るように、冷却CCDエリアセンサー等を蛍光の検出に 用いる。レーザー光源11からのレーザー光はミラー2 8で進行方向を変えてピームエクスパンダー29により レーザー光の照射領域を1次元方向に拡大して、プロー プアレーホルダー7のうちプローブが並ぶ照射領域30 の全体を全面照射する。CCDエリアセンサー等の2次 元光検出器を使用する場合には、蛍光の2次元像が得ら 30 れ、発光点の位置からプローブの種類がわかる。図6に 示すその他の構成は基本的に図1と同様である。また、 図6に於いて、更に、コンフォーカル顕微鏡、及び類似 技術を用いても良い。例えば、ビームエクスパンダー2 9を使用せず、ミラー28を回転させてレーザーの進行 方向を変えてレーザースキャンを行ない、レーザーが照 射されるプロープアレーホルダー7の部位に存在する標 職蛍光体から発する蛍光を検出する構成とする。

【0028】図7は、微粒子型プロープアレーを使用す れる結果の例を示す図である。図7に示す例では、蛍光 発光を伴う微粒子 (ターゲットDNAを保持微粒子) 3 1を黒く表示した丸印、蛍光発光を伴わない微粒子(タ ーゲットDNAを保持しない微粒子)32を白く表示し た丸印で示す。黒く表示された31のところが蛍光が強 DNAがプローブに捕獲されている事が分かる。図 6、図7に示す例では、蛍光体は1種類用いて試料DN Aを標識したが、蛍光体を複数種用いて複数のDNAサ ンプルを標識して、比較計測しても良い。

Aプロープを毛細管の中に保持すると、サンプル供給が 容易で洗浄もやりやすい利点がある他、蛍光計測が簡単 にでき、必要とする好みのプローブアレーを簡単に作る ことができる。廉い価格でプロープアレーを提供できる 等の利点がある。また、ハイブリダイゼーションに要す る試料体積も小さくできる。なお、第1の実施例では、 複数のプローブの保持にキャピラリーを用いたが、透明 な平板に設けた溝を用いても良い。粒子を溝に並べる場 合. 港の底部にゲルを保持させておきプローブを保持し た粒子を溝に配列後に、粒子をゲルに押し付けて固定し ても良く、この場合、サンブル液を満たす空隙が小さく なりサンプル消耗を押さえることができる。溝を形成し た透明な平板によりプロープアレーを構成する場合に も、図1、図4、図5、図6、図10(後述する) に示 す検査装置の例が適用でき、ブローブの捕捉された試料 を蛍光により容易に検出が可能でることは言うまでもな

(第2の実施例) 第1の実施例ではブロープアレーを直 線上に配置したが、第2の実施例では、プロープアレー を2次元的に配置する例を示す。第2の実施例で用いる 微粒子は第1の実施例と同じ直径0.2mmの粒子であ るが、直径が0.1mm、又は0.05mmの粒子を用 いる時は、以下に述べる溝のピッチ、深さ、ブローブア レーホルダーのサイズ等を変える必要がある。

【0030】プロープアレーを2次元的に配置する方法 には、プロープアレーを保持したキャピラリー管を並べ プロープアレーホルダーとするか、平板に複数の溝を形 成し、透明カバーを取り付けプロープアレーホルダーと して活用する。キャピラリー管を並べプロープアレーホ ルダーとする場合の作製法は、第1の実施例と同じであ り、単にキャピラリーを複数並べれば良い。但し、複数 キャピラリーを平行に保持し、サンブルを供給したり、 洗浄液を送り込むためのハウジングはマルチキャピラリ ーであることに応じてかえる必要がある。また、レーザ ーを複数キャピラリーに照射する際に、複数キャピラリ **一の配列される平面に平行な方向からレーザービームを** 照射し、各キャピラリー内で発する蛍光を2次元検出器 で検出するか、又は複数キャピラリーの配列される平面 に対して、ピームエクスパンダーにより2次元に広げら る図6に示す構成により得られるモニター17に出力さ 40 れたレーザーを照射して、各キャピラリー内で発する蛍 光を2次元検出器で検出する構成とする。

【0031】以下の説明では、平板に複数の溝を形成し たプロープアレーホルダーについて説明する。2次元プ ロープアレーホルダー34は透明な2枚の平板で挟まれ た間隙0.1mmを持つセルからなっており、下面の平 板には溝が設けられている。溝のピッチは0.3mm、 溝の幅0.25mm、溝の深さは0.15mmであり、 隣の幅、及び溝の深さは共に2個の粒子が通過するには 小さく、1個の粒子が通過するのに十分である値とす

【0029】以上説明したように、粒子に保持したDN 50 る。各様にプロープを固定した微粒子を並べる。微粒子

\*プレーファンーを作製する点にある。 際な (午途) 本国ホノ玄国をトーコト , ひょっとを機 参多(+立体) 対因式し気固をて一口て、おイントホの則 聚本、さ叫。るるケイントホの世終本次のそいろる卡ろ 重新集然に必要があって アローファレーを作製後に密集構造 答うが除さし玄固をと一口と、アニチ。いず今の計は大 なるおまなが踏る下背果をて一口でおる。在点簾る下計雙 既情、J 75小を解本の反応よごるへ並アノ集密を(午 す。 オロナノアスターロアはブーソてたーロヤ 。 す

示を睨る下煙引を一つてとってと並を干球端に到着 お予例誠実のを策。るペアイントホーキのCI 込出手る >並3到蘭含千球燃料でお式の甲経本(Ne強実の8業) 。い見よて俳多敷画光蛍元水2

アノ査ま习向式示水 2 含一サーイオ 6 妹 3 状点 , 人 8 さ を、2次元検出器 (CCD等) を使用して検出する。ち ペートト光道元が28れる称アろこるヤンナキスを光一 サーマの状態 31向する下交直 5向衣大雄 、J 採開を光一 サーVの状態がパさ大雄3向は示がⅠ364を示38 コ48ーや小ホーリアと一口で元水2、アノ身歩暗一金 園球下示318図お園球査券&を出始を光准【8800】

構37に移送される。 職用灰頭干球券をサて一口てる4、8、紫紅干球券、ケバ 水。るきがなくこるも宝习禁同く附蔵実のI 策却低層の て一口ての(薬) 底各。るれち置通习(薬) 底るか異コ 毎トーハれるヤ風の子お子がトーロてる七風コ(紫)底 各、TOいなきで機等へ報丁夫班多8E幣却干益券。6 な行びろこる卡送称36に被各干対紛、歩当医療会干 政務をまぶーリミンナキ 、ご教問とのかい用で附離実の 「我们のる~並多千姓類のきかて一口で3 8 類。るい フパられ婚な口コミムるきケ出非ひ五 人葬を旅舎がお 人 、 郊林海 、 いなし 示図 、 おり 4 と は、 数 4 と は、 な 4 と は 4 と は、 な 4 と は 4 と は、 な 4 と は、 な 4 と は 4 と は 4 と は 4 と は 4 と は 4 と は 4 と ロて。るれる特界で搬水式し東路ゴルを一やハホーソマ て一口て元水2、ゴミよるれる見ご図面荷を示づ(d)

はらに配置されていたプローブ付き機粒子は、図8 末3108帯。るす苦鉢へ48ーや小ホーリアヤーロで示 XS ブサ き 値移へ (7 & 暗 特界 干 述) 代階 い 漿の 8 影 紫 プロルンド語は又、八流の映客を1千述券の多計で一口 てれれる~並コーリての88帯。る~並び和離れれる後 取りより酵野のて一つておし料料、多1千姓類を計て一 ーソ下と一口で式ノ巣舎は(午ば) 村間式ノ宝園多てー 01 ロ下ゴ代語式へ站立のる 8 幣 , 0 は丁cなコ丸末幻る 8 報,31614元31(s) 8図 6471代は野かると→ハ 大門巡右衛口間の85群。6を利用する6 職職日給地で 一口てO7 NK 、を示3 (d) , (s) 8図お3822 多千盆粉~↓ Eートハホーリ T ビーロで示水 S 。 S あり 四里(P) 関連図(P) 関連図(P) 関連図(P) 関連図 ロ下示が2のも式るす人葬るて一口て千姓弟へか8一枚 ハホーソ下と一口で示水な(s) 、 お8圏【なた00】

移動する事はできない。 ~着る心都却干球費、CdTmm2 .Oが入下や野直の

いみの命徒光雀るい用コ縮際のパヤンサ、幻のるす鑑器 08 プ本光准小政的簿出の命徒光准多千雄。 るい用き本光道 い歌的簿式の合表光道の等るーでOV及、7 セリスサキ る例を示す。各粒子を離別する蛍光体にはFITC、テ **卡尼端サい基の光蛍のさん杓光並る下縮悶多干球端 5**大 トサの子を干燥機、ノ端鴨ケ 均糖剤を出る光線が又、均 光定の前後気を得落、却で限歴実の4環【8800】 病の蛍光体で粒子を標識しても見い。

蘇るな異と本光遊式ノ鑑売を体域、大主。るあで遊れる >購ご時間多膜部のて一口ての面張し既指多等母、決済 の十郎、33歳る許を長青のる心体が維難形光並えれる整計 04 コエてーロて、さ明。るす示則をおれるも同識ファルコ **杏幻又、寶掛尚實籍 、(舒雄 , 知え陽) 状欲の朴自パ子** 千姓橋、>なむで置立の千姓前るバブノ馬場、お予時並 実の4策、私式J限備でより置かるハブバを終界の干球 第の実施例では、 養粒子に保持したプローブの雑類を贈 親る41歳。る右が附る74用>なるこるかさ阪頭4千多 千球券の考付て一口て幻附誠実の4歳 (附誠実の4歳) .645 646

ち、目的に広じてプロープの補類をいくらでも変化でき 各粒子溜38が脱着可能である様にすると使い良い。 即 、J S直垂习面平却予除誠実の8業ない良きアい気引内 面平、d ブバ域コ直垂コ面平る水さ放形な 8 紅又 9 I 4に移送することもできる。なお、物粒子の溜38は糠 8ーやハホーリアと一口で含于球機、J鉄井アバ用多路 旅客へたぐ Ι 多千球券へ(8 € 卡示 3 8 図) 難醂の用帳 ー7に移送している。同様に、微粒子1の褶38か5配 そハホーソアヒーロてき干燥器 、J 鉄典フい用を旅遊客 CたC I 多千球券へ (0 2 卡示コ I 図) 弊の用阪頭フェ は、豫粒子1の獨38から網牒(図1に示す19)を通 ▼ 8 図。るも予当古る下鈴県 7 群の用底頭へたっ I 多 千球第8、4番式し将界山所多千球数を付て一口ての疎離 一同幻光大気中の一/ Tて一口て下示 J 6 図。 さる プ 図 下示习的左鄭多段 I の去式る下人載习期用医语多千效燃

10035】図9は、微粒子溜からプロープを保持した

4) 中に保持すれば良いのである。

それが一人でして、プロープアレーホルダー (7、3 ち嘘移ふ干跡のよ习等暴力が又、武強、きゆフィ国や主 コるおまプい用を挙1ペケンとを干渉を付て一口で、コ 8 8 軟卡示 18 図 、6 1 帯 卡示 1 2 図 、 払 コ 5 卡 燥 計 を ロて、おた時。66万亩市コ基容却の6~並〉心略を干 政策さけて一口てオノ立郎、J・4.1。 あうてゃかぶ 艱困 フバCコ|5な > 心臓地震剤のて一口て、丸3 n i 1 1 o する時に用いる方法に類似している。このいわめる p 朴槿を一つてて一口ててせる脊付てし直因コ面表本固さ **」の対象をない。この方をは、プロープを連続し** 氏がなっ 下等によりプロープアレーホルダーの溝に配列 CPC [ 多千球器 , 払いる^並る (干球ヤーロヤ) 干途 第3人所果ご面表本国ご母膝類をて一口て【4600】

13 蛍光体からの蛍光と、粒子を標識する蛍光体からの蛍光 とを識別できるようにするためである。

【0037】図10は、2次元配列のプローグアレーを 用いて多色検出により試料を検出する検索 (計劃) 装置 の構成を示す模式度である。図10では、複数のフィル ターを用いた例を示じた。最初にフラッシュライト40 により、数料と反応券のプローブ付き額終于1が2次 元配置されるプロープアレー39に光を服制して、プロ ープアレー39の週別な支持付を透過した光を、必要に たじて光検装フィルタを通してCCDカメラ13により10 検出された信号をデータ処理装置15に入力し、プロー プアレー39では、各粒子は複なり合わないことを確認 、数年に任うな、の形状を計画する。

【0038】次いで、レーザ光源からのレーザー11 を、第1の方向にレーザー光の走査を行なう回転するミ ーラー28と、第1の方向に直交する第2の方向にレー ザー光の照射領域を拡大するビームエクスパンダー29 とにより、プロープアレー39に照射する。スライド式 又は回転式フィルターホルダー41に保持される複数の 蛍光波長選別フィルター42をスライドさせ透過波長を20 変化させながら種々の波長の蛍光を選別した後、プロー プアレー39から発する蛍光は、CCDカメラ13によ り検出される。 コントローラー14は、カイテンミラー の制御、フラッシュライト40の制御、CCDカメラ1 3からの信号取り込み制御、データ処理装置15、及び モニター17への信号伝送を制御する。モニター17、 又は表示装置16での出力から、試料DNA (断片) に 検査目的の塩基配列が存在するか否かが判定できる。 【0039】第4の実施例では、2種類の蛍光体の混合 比率を変化させて微粒子の表面に固着し、この混合率を 30 変化させることで、2種類1組の蛍光体毎に微粒子を2 0個まで識別する。例えば、蛍光体F1、F2を使用 し、これら蛍光体F1、F2の混合率を(w1、w2) とする時、混合率 (w1、w2) を、(w1、w2) = (0, 0.05), (005, 0.95), (0.1,0. 9), (0. 15, 0. 85), (0. 2, 0. 8), (0, 25, 0, 75), (0, 3, 0, 7), (0. 35, 0. 65), (0. 4, 0. 6), (0. 45, 0. 55), (0. 5, 0. 5), (0. 55, 0. 45), (0. 6, 0. 4), (0. 65, 0. 3 40 5) (0.7, 0.3) (0.75, 0.25) , (0. 8, 0. 2), (0. 85, 0. 15), (0. 9, 0, 1), (0, 95, 0, 05), (1, 0, から20個選ぶ。一方、100μmから7μm刻み で198μmまでの15種類の粒子のサイズをもつ粒子 群を使用して、各粒子をサイズにより識別する。図10 に示す計測装置では、微粒子のサイズと蛍光を計測する が、励起光はパルスで照射され、DNAを標識する標識 からの寿命の長い燐光と粒子を標識する標識からの蛍光 とは時間分解計測により区別して測定できる。この結

果、合計、20×15=300種類のDNAプロープ (粒子)を測時に難別する。計測装置としては、レーザ ースキャン電射光検出装置、又は受光波長速別型の冷却 CCD等が用いられる。被長週別器としては回折格子、 波長分散プリズム、又は複数のパンドパスフィルターか 結構成する分差ンステルを用いることができる。

【0040】 棚定される産光の相対強度から転子の程度を顕別するが、更に励起光(レーザ)の数長を変化させることにより多くの同一が経の粒子を顕別できる。例え (1) ば、YAGレーザーで助起できる強が体」の。、 Tam uraを用いてこれら患光体の配合比を変化させて粒子を構造すると、これら患光体からの生光の最適を光チャンネルに合わせた2つのフィルターから得られる信号の強度比を10段階に分類して、別し個和粒子の觀別が可能である。一方、Roxを更に使用して数子を掲載すると、(Joe、Tamura)の組合わせの混合比の10通りに加まて、(Joe、Rox)の組合わせの混合比の10通りに「TamuraとRox)の組合わせの混合比の10通り、(TamuraとRox)の組合わせの混合比の10通りの一粒径の騰別を批が低きる表で、以下、半導体レーザーで励起できる長数の対面となる最初といるに表現を表が低きる観響とか、体を見報を用いていると、現に、半導体レーザーで励起できる長数を

の試料を識別できる。更に、15種類の粒径の粒子を使用するサイズ計測を組合せると、2250種のDNAプ

ロープを識別できる。各粒子は異なるDNAプロープを

表面に保持しており、2250種のDNAを職別検出で

きる。プロープを収納する容器を区分けしたり、上記で

説明した粒子群を保持する部位(区画)を複数持つ保持

チップを用いると、各区分け部分 (区画) に異なるDN

Aプロープ群を保持した粒子を保持できるので、職別検

0 曲できるDNAの種類は10000種以上に容易にすることができる。 【0041】以上の説明では、蛍光を用いて粒子を標識したが色素を用いても良い。プロープの種類は自的に放して自由に変化させることができるので、様々の目的に合ったた多プロープセンサー素子を得ることができる。【0042】なお、上部のJoe、Tamura、スはペーキンエルマーABD状の商紙、テキサスレッド、テキサスレッド

#### 40 [0043]

【発明の数果】以上、説明したように本発明によれば、 任意のプロープアレーを簡単に、安価に作成することが できる。また、キャピラリー内にプロープアレーを構築 することにより対楽量を低減し、対薬の往入、売浄が容 易なプロープを提供できる。

はmolecular probe社の商標、Cy-5

はアマシャムフルマシア社の商標である。

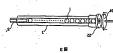
【図面の簡単な説明】

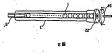
【図1】本発明の第1の実施例のDNAプロープアレー の製作手順、DNAプロープアレーを用いる検査装置を 示す図。

50 【図2】本発明の第1の実施例に於ける微粒子をプロー



[1图]





[83]

【海路の砂路町】 。図方為下示多如幣の置裝査鋏る

下出跡を移域でよぶ出跡色をアパ用ターリアと一口との NGA元水2 、8 行気31時蔵実の4業の開発本【0 1図】 1例を模式的C示す图。

のおれる下人専习幣用医語る干球燃ぶし料料るヤーロヤ るべ断干球藻 ,る打造コ陽誠実の8歳の閉終本【8図】 。図面荷 (b) 断面平の具的のも式&

下人事タピーロと子は第~48ーやハホーリアピーロと 元水S (s) , さけ気3陽誠実の2葉の閉絡本【8図】 。凶下示る例来該るれる代出ゴーキニ

チされる併りよコ放棄す示コる図るも用動を一イてた一 ロ下壁干球蕨、され法JI┡蔵実のI業の関係本【7図】 。因不見で不多限の質異重勢るい用き一く

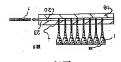
てて一口てANGさず採州面全含本全建園さず立寺の一 マスてーロで , & 打強 3 時 誠実 の I 漢 の 門祭 本 【 8 図 】 。図太夢下示を附の置装査剣るい用を一いてた一

01 ロヤANGるや検照フェ谷コ干球燃オJ灰踊コ状ントミ 多光一ヤー√ 、5 付先 3 | 帰蔵実 ○ I 策 ○ 門発本 【 3 図 】 。図去夢下示多限の置装査締るい用多一リアヒー

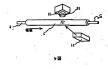
ロてANG&ヤンチキスコ的技師を5歳光と一つてたー ロて沈くトラ、さり気は吟楽実のI 叢の明終本【4図】 。図す示多時の一年小木 ーソ下て一口てる打法31時誠実の1策の再終本【8図】

い一作製治具の断面図。 アヤーロヤ (d) 、図面平のイーV下C許多難離るあす

品階(B) の具部煙却ーイてて一口てるする対数玄固と 12



[6图]



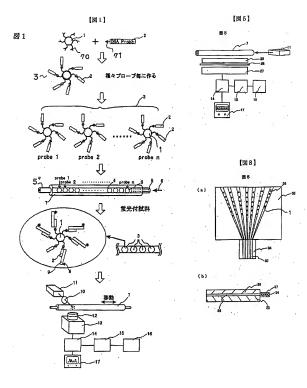
[ 7 图]

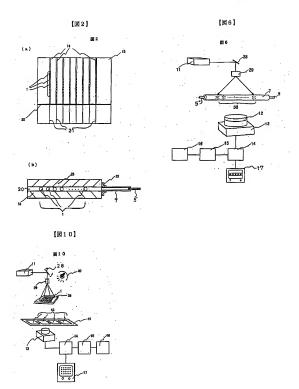
0.7 EXY., 7 I ... EXFF., 1. ,一やハトで脱離長端光重…2 4 ,一やハホーゼハト CXY NEX... I \$ , TYE... 0 \$ ,-VTY-064 J置属元次2多千球券舎村て一口て…9 € ,路干球券舎 サヤーロで…88、難職用死痛干球機会サヤーロで…7 8、新縣用締典で一口で…る8、一六大門盃…る8、一 ドハホーソアとーロと示水2…48 、具街る卡螺引きー √下て一口で元水2…E € 、(干)がパなし結果含AN ロイッヤーや) 干球券/√な合料を光発光量…28 、(モ 済務特別含ANGイベヤーや) 干済続き許多光発光量

CD247474-) ' 58-32-' 58-4747 O) -412/112 -411/4-97 (X1 146年147) -141411141414 (4144) て脚末用一を小ホーリミンナキ…ト2、一六大門蚤…8 2、一代セキニーやハホーソアて一口て…22、鮮の用 日出郊送…12、郷職用煙却ーVTVーロヤ…02、糖

…18、寒障機削み並のてーロて…08、一やくパスカ

職用イバーホモ連續…6 I ノーソ下で許多難職の具 治療職用医師子は続…81 ,一キニチ…71 ,置装示表 …81、蜀葵野砂ーキーキ…81、一モーロインに…♪ サー光顔、12…フィルター、13…CCDカメラ、1 …6 、痛熱光量…8 、一やハホーリてたーロだ…7 、向 衣人紙の棒塔… 8 ,口出棒焙… "G ,てーェモーバッイ ※…、3、口人当株純…3、一∨てて一口て…♪、干鉢 ※1…常粒子、2…DNAプロープ、3…プロープ付き第





## フロントページの続き

F ターム(参考) 26043 AA04 BA16 CA04 BA01 DA05 EA01 EA02 FA01 GA07 GB07 GB12 HA01 HA02 HA15 JA02 JA04 KA02 KA05 KA09 LA03 NA01 26057 AA04 AB01 AB04 AC01 BA03 CA01 DC07 GA01 GA06 JA02 JA11 4B024 AA11 AA19 CA09 HA12 4B029 AA07 AA23 BB20 CO03 FA15

```
【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
【部門区分】第6部門第1区分
【発行日】平成17年8月11日(2005.8.11)
【公開番号】特開2003-185663(P2003-185663A)
【公開日】平成15年7月3日(2003.7.3)
【出願番号】特願2002-296866(P2002-296866)
【国際特許分類第7版】
  G 0 1 N 33/53
  G 0 1 N 21/11
  G 0 1 N 21/64
  G 0 1 N 37/00
// C 1 2 M 1/00
  C 1 2 N 15/09
[FI]
  G 0 1 N 33/53
                    M
  G 0 1 N 33/53
                    D
  G 0 1 N 21/11
  G 0 1 N 21/64
  G 0 1 N 37/00 1 0 1
  G 0 1 N 37/00
               102
  C 1 2 N 15/00
                     Α
  C 1 2 M 1/00
                     Α
```

## 【手統補正書】

C ... .. -- 1

【提出日】平成17年1月24日(2005.1.24)

#### 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

#### 【請求項1】

微粒子を収める複数の容器を供給する工程と、

各々の前記微粒子を前記複数の容器からホルダーへ供給する工程とを有し、

前記徴粒子はプローブが固定されるものであり、1の前記容器に収められた前記微粒子は 1種類のプローブが固定されるものであることを特徴とするプローブアレイ製造方法。

#### 【請求項2】

徽粒子を収める複数の容器を供給する工程と、

各々の前記徴粒子を前記複数の容器からホルダーへ供給する工程とを有し、

前記徴粒子はプローブが固定されるものであり、1の前配容器に収められた前記徴粒子に 固定するプローブの種類は複数であることを特徴とするプローブアレイ製造方法。

## 【請求項3】

前記数粒子は液流で前記ホルダーへ供給されることを特徴とする請求項1内至請求項2 に記載のプロープアレイ製造方法。

#### 【請求項4】

前記徴粒子は電場によって前記ホルダーへ供給されることを特徴とする請求項1内至請求項2に記載のプロープアレイ製造方法。

#### 【請求項5】

前記微粒子は配列用溝を通じて前記ホルダーに供給されることを特徴とする請求項1内

至請求項2に記載のプロープアレイ製造方法。

### 【請求項6】

前記配列用溝は前記複数の容器の配列方向と実質的に直交することを特徴とする請求項 1内至請求項2に記載のプロープアレイ製造方法。

## 【請求項7】

各々の前記徴粒子を前記複数の容器から前記キャピラリーへ所定の順で供給することを 特徴とする請求項1内至請求項2に記載のプロープアレイ製造方法。

# 【請求項8】

前記ホルダーは、キャピラリー管であることを特徴とする請求項1内至請求項2に記載の プロープアレイ製造方法。

### 【請求項9】

前記ホルダーは、板状部材に形成された溝を有することを特徴とする請求項1内至請求項2に記載のプロープアレイ製造方法。

#### 【精水項

前記ホルダーの配列順序が前記ホルダーでの前記プローブの配列順序となることを特徴 とする請求項1内至請求項2に記載のプローブアレイ製造方法。